

مقایسه میزان بیان miR-126 در بافت سرطان سینه و بافت نرمال و ارتباط آن با سن افراد در جمعیت ایران

مائده رویگری^۱، کامران قائدی^{۲*}، پریسا محمدی نژاد^۱

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۲گروه زیست‌شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۴

چکیده:

زمینه و هدف: سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان در میان زنان است. miRNA ها دسته‌ای از RNA های غیر کدکننده هستند که نقش مهمی در کنترل بیان ژن در سطح پس از رونویسی ایفا می‌کنند. miR-126 یک miRNA ابترونی است که در ژن EGFL7 قرار دارد. miR-126 در سرطان سینه به‌عنوان سرکوب‌کننده‌ی تومور بوده و میزان بیان آن کاهش می‌یابد. هدف این مطالعه بررسی میزان بیان miR-126 در بافت توموری و نرمال سرطان سینه و ارتباط آن با سن افراد در جمعیت ایران می‌باشد.

روش بررسی: بررسی وضعیت بیان miR-126 در بافت‌های نرمال و سرطانی پستان توسط روش Real Time RT-PCR سنجیده و سپس ارتباط بیان این miRNA با سن افراد محاسبه می‌شود. ژن U6 به‌عنوان ژن کنترل انتخاب گردید. جهت آنالیزهای آماری از روش t مستقل و ANOVA استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که بیان miR-126 به هنگام توموری شدن کاهش یافته و میانگین میزان بیان این miRNA در گروه‌های نرمال با گروه‌های بدخیم و خوش‌خیم متفاوت است ($P < 0.05$)؛ همچنین مقایسه بین بیان miR-126 با سن افراد مشخص شد که میان سن بیماران و بیان miR-126 ارتباط وجود دارد و سن افرادی که بیان miR-126 پایینی دارند کمتر از سن افرادی است که بیان miR-126 بالایی دارند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان‌دهنده این می‌باشد که بیان miR-126 در حالت توموری کاهش می‌یابد. علاوه بر این، بین میزان بیان miR-126 با سن بیماران، ارتباط معنی داری مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، بیان ژن، miR-126، Real Time RT-PCR

مقدمه:

ایرانی در مقایسه با زنان کشورهای توسعه‌یافته، حداقل یک دهه زودتر بروز می‌کند و بیماران در مراحل پیشرفته بیماری شناسایی می‌شوند. علاوه بر این زنان جوان مبتلا به سرطان سینه یک دوره تهاجمی‌تر با پیش‌آگهی ضعیف‌تری از بیماری را نشان می‌دهند (۲). عوامل متعددی سبب افزایش خطر بروز سرطان سینه می‌شوند که شامل سن، جنس، ژنتیک و قومیت می‌باشد (۳). بروز سرطان سینه و میزان مرگ‌ومیر با افزایش سن افزایش می‌یابد. در طول سال‌های ۲۰۰۴-۲۰۰۰، تعداد افراد مبتلا شده افزایش یافته و گفته

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان بدخیم در میان زنان است و بعد از سرطان ریه، دومین علت مرگ‌های سرطانی را به خود اختصاص می‌دهد (۱). در ایران سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در میان زنان بوده به‌طوری‌که حدود ۲۱/۴٪ از تمام سرطان‌های زنان را شامل می‌شود. شناسایی عوامل خطر و اقدامات پیشگیرانه توسط زنان ایرانی و پس از آن در زنان کشورهای در حال توسعه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به طوری که مقالات نشان می‌دهد رخداد سرطان پستان در ایران در حال افزایش است و این سرطان در زنان

*نویسنده مسئول: اصفهان- دانشگاه اصفهان- گروه زیست‌شناسی- تلفن: ۰۹۱۳۳۲۹۴۹۱۷، E-mail: kamranghaedi@yahoo.com

شده است که مرگ‌هایی که در اثر سرطان سینه رخ داده در زنان ۴۰ سال و مسن‌تر بیشتر بوده است، همچنین گزارش شده که کمترین نرخ بروز سرطان در زنان با سن ۲۰-۲۴ سال می‌باشد (به میزان ۱/۴ مورد در ۱۰۰۰۰۰). بیشترین میزان بروز در زنان ۷۵-۷۹ سال مشاهده شده است. در زنان ۸۰ سال و بالاتر نرخ اختصاصی بروز سرطان کاهش یافته که ممکن است در اثر غربالگری، تشخیص سرطان توسط ماموگرافی، قبل از این سن بوده است. به‌طور متوسط سن تشخیص سرطان ۶۱ سال می‌باشد و به این معنی است که ۵۰٪ از زنانی که سرطان سینه در آن‌ها رشد یافته و تشخیص داده شده، ۶۱ سال و یا جوان‌تر بوده‌اند و ۵۰٪ مسن‌تر از سن ۶۱ سال بوده‌اند (۳).

فرآیند پیری انسان یک فرآیند بسیار پیچیده‌ای است که بسیاری از مسیرهای سلولی و مولکولی در بافت را درگیر می‌کند. یکی از اهداف مهم مطالعه در این رشته شناسایی مسیرهای سلولی در بافت و شناسایی بیومارکرهای مهم در این فرآیند بوده که ممکن است برای تشخیص بیماری‌هایی که سن در آن‌ها نقش دارد، مفید باشد (۴).

میکرو RNA ها (miRNA)، گروه جدیدی از RNA های غیرکدکننده و تک رشته‌ای به طول تقریباً ۲۰ الی ۲۵ نوکلئوتید هستند که نقش محوری در تنظیم فرآیندهای سلولی و نموی دارند. این دسته از RNA ها با تنظیم و کنترل بیان ژن‌ها در سطح پس از رونویسی، اثر خود را اعمال می‌کنند. به طوری که با تخریب و یا مهار ترجمه‌ی mRNA از بیان پروتئین‌ها، جلوگیری به عمل می‌آورند. علاوه بر این لازم به ذکر است انتخاب مکانیسم، بستگی به میزان مکمل بودن miRNA با mRNA هدف دارد (۵، ۶). miRNA ها می‌توانند منجر به پایداری مسیرهای بیولوژیکی شده و به نوبه‌ی خود فرصتی را برای دستیابی به طول عمر بیشتر و یا پیشرفت بیماری‌های مربوط به سن شوند. مطالعات اخیر حاکی از این می‌باشد که miRNA ها برای تشخیص و پیش‌آگهی بیماری‌های مربوط به سن نقش مهمی

دارند (۷). علاوه بر این مشخص شده است که miRNA ها در چگونگی ایجاد انواع تومورهای بدخیم و به‌خصوص سرطان سینه نقش مهمی را ایفا می‌کنند (۸) و همچنین می‌توانند مسیر پیام‌رسانی خانواده HER را در سطوح مختلف، از طریق تنظیم ژن‌های هدف متعدد کنترل کنند (۹). اطلاعات به‌دست‌آمده از مدل‌هایی مثل *Caenorhabditis elegans* و موش نشان‌دهنده‌ی این می‌باشد که بیان miRNA ها در طی افزایش سن تغییر می‌یابد (۷). علاوه بر این، بیان بسیاری از بیومارکرهای زیستی در طول زندگی افراد تغییر می‌کنند. در صورتی که بقای افراد، نیازمند این بوده که متغیرهای فیزیولوژیکی در سطح مطلوبی قرار داشته باشند (۱۰). جالب توجه است که مطالعات بیانگر این می‌باشند که بیان miRNA ها در طی افزایش سن تغییر می‌یابد؛ لذا پیشنهاد شده که miRNA ها و اهدافشان می‌توانند به‌عنوان یک شاخصی برای تشخیص بیماری‌ها باشند (۷).

miR-126 توسط اینترون ۷ ژن *EGFL7* کدگذاری شده و به میزان زیادی در سلول‌های اندوتلیال ازجمله مویرگ‌ها و عروق خونی بزرگ‌تر بیان می‌شود (۱۱) و در کنترل رگ‌زایی بر mRNA های مختلفی تأثیر می‌گذارد (۱۲). در مطالعات گوناگون مشخص شده است که بیان miR-126 در انواع مختلف سرطان‌ها ازجمله سرطان کولورکتال، پروستات، ریه، معده و سرطان سینه متفاوت بوده است و می‌تواند از طریق ژن‌های هدفش منجر به کاهش مهاجرت سلولی و تهاجم گردد (۱۳).

به‌تازگی miR-126 به‌عنوان سرکوب‌کننده‌ی متاستاز شناسایی شده و مشخص شده است که در هنگام عود سلول‌های سرطان پستان بیان آن کاهش می‌یابد. miR-126 در انواع مختلف سرطان‌ها به‌عنوان سرکوب‌کننده‌ی تومور نقش ایفا می‌کند. گفته شده که miR-126 پیشرفت سرطان را از طریق مسیر سیگنال دهی کنترل‌کننده سلول، مهاجرت، تهاجم و بقا مختل می‌کند. اگرچه miR-126 از طریق ترویج رگ‌های خونی می‌تواند منجر به پیشرفت سرطان شود (۱۱)، مطالعه‌ی ای بر روی *Zebra fish* و

موش نشان می‌دهد که miR-126 می‌تواند به‌عنوان حد واسط در رگ‌زایی و یکپارچگی عروق به‌وسیله پاسخ مهارکننده‌ی مسیر الفاکتنده‌ی VEGF در سلول‌های اندوتلیال، عمل کند (۱۲).

با توجه به مطالعات انجام گرفته بر مبنای میزان بیان miR-126 در بافت‌های گوناگون از جمله بافت و سرم بیماران مبتلا به سرطان سینه نتایج مختلفی را گزارش کرده‌اند (۱۴). علاوه بر این، مطالعه‌ای که بر روی سرم و بافت بیماران مبتلا به سرطان سینه و ارتباط آن با سن در جمعیت چینی انجام شده است ارتباط معنی داری بین بافت نرمال و بافت سرطانی مطرح نکرده‌اند (۱۵). با توجه به این نتایج ذکر شده یافتن نقش بیولوژیکی miRNA ها دارای اهمیت می‌باشد و از آنجایی که تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر میزان بیان miR-126 در بیماران جمعیت ایرانی و ارتباط آن با سن منتشر نشده، لذا ما در مطالعه حاضر بر آن شدیم میزان بیان miR-126 در بافت نرمال و سرطانی سینه و ارتباط این miRNA با سن افراد را بسنجیم.

روش بررسی:

در این مطالعه ۱۰ نمونه بافت سالم سینه، ۳۰ بافت بدخیم و ۱۰ بافت خوش خیم را از دو منبع مختلف تهیه کرده‌ایم. یک سری از نمونه‌ها از بانک تومور تهران خریداری شد و مابقی از مطب پزشک مربوطه با کسب رضایت‌نامه از بیماران تهیه شد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: وضعیت سنی نمونه‌های توموری

نمونه	سن	تعداد
بیماران بدخیم	< ۵۰ سال	۱۵ نفر
	≥ ۵۰ سال	۱۵ نفر
بیماران خوش خیم	< ۵۰ سال	۷ نفر
	≥ ۵۰ سال	۳ نفر
بافت‌های نرمال	< ۵۰ سال	۷ نفر
	≥ ۵۰ سال	۳ نفر

طبق پروتکل مربوط به کیت استخراج RNA شرکت GeneAll® Hybrid-R™ miRNA کره به نام استخراج miRNA انجام گرفت.

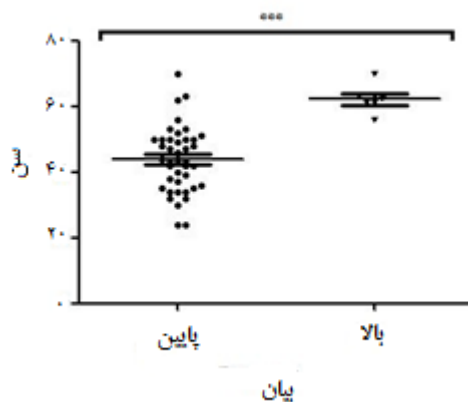
۵ میکرولیتر از محلول RNA جمع آوری شده به لوله جدید انتقال داده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر میزان جذب نور در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ مورد سنجش قرار گرفت و سپس میزان جذب نمونه‌هایی که دارای نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ در محدوده تقریباً ۱/۸ تا ۲ قرار گرفته بود، برای مرحله‌ی بعد انتخاب شد. بر اساس میزان غلظت گزارش شده که بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده میزان غلظت تقریبی در ۱۰۰ میکرولیتر محاسبه شد.

با استفاده از کیت سنتز cDNA پارس ژنوم مرحله‌ی cDNA سازی طبق دستورالعمل این شرکت ساخته شده و سپس جهت مقایسه میزان بیان miR-126 در بافت‌های سرطانی نسبت به بافت‌های سالم از ژن U6 به‌عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. رونویسی معکوس (سنتز cDNA) از ژن‌های miR-126 و U6 توسط کیت رونویسی معکوس ساخت شرکت پارس ژنوم طبق دستورالعمل این شرکت انجام شد.

با استفاده از پرایمرهای شرکت پارس ژنوم و برنامه‌ی ذکر شده برای دستگاه Real Time PCR انجام شد.

برنامه Real Time PCR برای دستگاه کوربت، فعال‌سازی (Activation) اولیه در دمای °C ۹۵ به مدت ۵ دقیقه (۴۰ سیکل (واسرشت‌سازی (Denaturation) در دمای °C ۹۵ به مدت ۵ ثانیه، اتصال (Annealing) پرایمرها در دمای مناسب °C ۶۲ به مدت ۲۰ ثانیه بسط (Extension) در دمای °C ۷۲ به مدت ۳۰ ثانیه) تنظیم دما در بازه °C ۶۰ تا °C ۹۵ جهت تشکیل منحنی ذوب انتخاب شد. پس از پایان واکنش، سیکل آستانه (Ct) هر نمونه به دست می‌آید. از اختلاف سیکل آستانه ژن مورد نظر با ژن کنترل داخلی یا اصطلاحاً خانه گردان (House keeping)، می‌توان میزان بیان نسبی ژن مورد نظر را از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ به دست آورد و به منظور آنالیز

افزایش سن بیان miR-126 افزایش پیدا می کند (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره ۲: میزان بیان miR-126 در افرادی که دارای بیان نسبی بالایی از این miRNA بوده با افرادی که بیان پایینی داشته اند

میزان بیان miRNA ها بین دو گروه دارای اختلاف معنی داری است؛ *** $P < 0.001$

بحث:

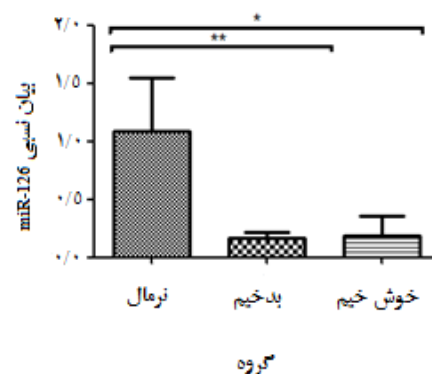
سرطان سینه بیماری است که در آن سلول های بدخیم از بافت سینه منشأ گرفته به طور نامنظم و فزاینده ای تکثیر می یابند و بدون اینکه موجب عکس العمل تدافعی و تهاجمی در سیستم ایمنی بدن شوند، از سیستم ایمنی و دفاعی بدن عبور می کنند (۱۶). گزارش ها نشان می دهد حدود ۵۰٪ از تشخیص های سرطان سینه و اکثریت (۶۹٪) مرگ و میرهای ناشی از سرطان سینه، در کشورهای در حال توسعه رخ می دهد (۱۷). علاوه بر این، بر طبق گزارش های موجود سرطان سینه در زنان ایرانی شایع ترین سرطان بوده است. به طوری که، حدود ۲۱/۴٪ از جمعیت زنان را به خود اختصاص می دهد. در نتیجه شناسایی عوامل خطر و اقدامات پیشگیرانه توسط زنان ایرانی و پس از آن در زنان کشورهای در حال توسعه از اهمیت ویژه ای برخوردار است (۲).

سرطان سینه یک بیماری هتروژن است و مکانیسم های مختلفی در بروز آن دخیل می باشد. به همین علت رشد تومور، متاستاز و پاسخ های درمانی در افراد

داده ها از نرم افزار SPSS استفاده شد. در ابتدا برای تعیین نرمال بودن حجم نمونه ی مورد بررسی از آزمون 1-sample k-s (کولموگروف اسمیرنوف) و پس از تأیید نرمال بودن از آزمون آنالیز واریانس استفاده شد. جهت ارتباط بین miR-126 با سن از آزمون t مستقل استفاده شد.

یافته ها:

میانگین و انحراف معیار میزان بیان miR-126 در ۳ گروه نرمال، بدخیم و خوش خیم محاسبه شده و سپس با آنالیز واریانس مربوطه میانگین میزان بیان miR-126 در ۳ گروه با هم مقایسه شده و نتایج نشان دهنده وجود اختلاف در ۳ گروه می باشد؛ معنی داری آماری مربوط به گروه های نرمال و بدخیم و همچنین گروه های نرمال و خوش خیم کوچک تر از ۰/۰۵ می باشد؛ یعنی میزان بیان miR-126 در حالت نرمال نسبت به حالت بدخیم و خوش خیم اختلاف معنی داری دارد (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: میزان بیان نسبی miR-126 در

۳ گروه نرمال، بدخیم و خوش خیم بافت سینه

میزان بیان miR-126 در حالت توموری شدن (بدخیم و خوش خیم) کاهش یافته است؛ * $P < 0.05$ ، *** $P < 0.001$

سپس ارتباط بین بیان miR-126 با سن افراد سنجیده و مشخص شد که سن افرادی که بیان miR-126 پایینی دارند، کمتر از سن افرادی است که بیان miR-126 بالایی دارند؛ بنابراین می توان گفت با

مختلف بسیار متفاوت است. دوره کلینیکی این بیماری نیز اغلب غیرقابل پیش‌بینی است (۱۸). با توجه به اهمیت این موضوع که این سرطان در کشور به‌طور فزاینده‌ای رو به رشد می‌باشد و در ایران نسبت به سایر کشورهای درحال توسعه تعداد بیشتری از زنان به این بیماری مبتلا شده و همچنین میانگین سنی نسبت به سایرین کمتر می‌باشد. ما بر آن شدیم که پژوهشی در راستای شناسایی زود هنگام و به موقع این بیماری ارائه کنیم.

در مطالعات اخیر که بر روی سرطان سینه انجام گرفته شده است، نقش تومور مارکرها به‌طور فزاینده‌ای مورد اهمیت واقع شده اند چراکه بر پیش‌آگهی، درمان و بقا تأثیر می‌گذارند (۱۹). miRNA ها پتانسیل قابل توجهی برای استفاده به‌عنوان بیومارکرها جهت شناسایی، تشخیص، طبقه‌بندی و درمان سرطان دارند و می‌توانند مرحله‌ی تومور، وضعیت ریسپتور و بقای بیمار را نشان دهند (۲۰).

miR-126 تاکنون تنها miRNA مشخص شده‌ای است که در سلول‌های اپیتلیال بیان اختصاصی دارد و اولین miRNA عروقی است که ژن آن در موش حذف شده است. از دست دادن عملکرد آن در موش و Zebra fish نشان می‌دهد که miR-126 نقش مهمی در کنترل یکپارچگی عروق و رگ‌زایی دارد. به‌تازگی miR-126 به‌عنوان سرکوب‌کننده‌ی متاستاز شناسایی شده که در هنگام عود سلول‌های سرطان پستان کاهش می‌یابد. miR-126 در انواع مختلف سرطان‌ها به‌عنوان سرکوب‌کننده‌ی تومور نقش ایفا می‌کند. گفته شده که miR-126 پیشرفت سرطان را از طریق مسیر سیگنال دهی کنترل تکثیر سلول، مهاجرت، تهاجم و بقا مختل می‌کند. اگرچه miR-126 از طریق ترویج رگ‌های خونی می‌تواند منجر به پیشرفت سرطان شود (۱۴)، مطالعات بر روی Zebra fish و موش نشان می‌دهد که miR-126 به‌عنوان حد واسطه در رگ‌زایی و یکپارچگی عروق به‌وسیله پاسخ مهارکننده‌ی مسیر القاکننده‌ی VEGF در سلول‌های اندوتلیال، عمل می‌کند (۲۱).

مطالعات نشان‌دهنده این می‌باشد که میزان بیان miRNA ها در سنین مختلف متفاوت بوده و همچنین در پیشرفت مسیرهای بیولوژیکی وابسته به سن نقش مهمی ایفا می‌کنند. علاوه بر این، گزارش شده است که miRNA ها در فرآیند پیری، استرس اکسیداتیو و التهاب نقش مهمی ایفا می‌کنند (۱۵) و نتایج حاصل از این تحقیق ممکن است ایده‌های جدیدی را در تحقیقات و درمان ارائه کند. ارتباط بالینی بین میزان بیان miR-126 با سن می‌تواند به‌عنوان بیومارکری برای سرطان سینه در سنین بالا باشد. علاوه بر این، رابطه لازم است ارتباط بین میزان بیان miRNA ها با سن تعیین شود. چراکه نیاز به درکی از نقش miRNA ها در کلینیک می‌باشد.

مطالعه‌ای که Wang و همکاران انجام داده‌اند، میزان بیان miR-126 را در سرم و بافت بیماران مبتلا به سرطان سینه سنجیده و اظهار داشته‌اند که میزان بیان miR-126 به‌صورت معنی داری در سرم و بافت افراد مبتلا به سرطان خوش‌خیم و بدخیم کاهش می‌یابد. علاوه بر این، با توجه به نتایج حاصل از مطالعه‌ی مذکور اختلاف معنی داری بین بیان miR-126 و سن وجود ندارد (۲۲). نتایج مطالعه‌ی حاضر از نظر میزان بیان miR-126 در بافت توموری خوش‌خیم و بدخیم با نتایج مطالعات گذشته موافق بوده ولی نتایج حاصل از مقایسه میزان بیان این ژن با سن افراد نتایج متضادی را نشان می‌دهد، بر اساس نتایج به‌دست آمده اختلاف معنی داری بین سن بیمارانی که بیان پایینی از miR-126 را داشته‌اند، با بیمارانی که دارای بیان بالاتری از این ژن می‌باشند، وجود دارد. لذا به نظر می‌رسد در مورد ارتباط میزان بیان miR-126 با سن نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد.

نتیجه گیری:

به‌طور کلی بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان اظهار کرد که miR-126 به‌عنوان

تشکر و قدردانی:

سرکوب‌کننده‌ی تومور می باشد. علاوه بر این، مقایسه‌ی صورت گرفته بین میانگین سنی بیماران و میزان بیان miR-126 نشان‌دهنده این بوده که بیان miR-126 با افزایش سن، افزایش می‌یابد.

بدین‌وسیله از خانم دکتر مریم طباطبائی‌ان که در به ثمر رسیدن این پروژه با ما مساعدت فرمودند، تشکر به عمل می‌آید.

منابع:

1. Benusiglio PR, Lesueur F, Luccarini C, Conroy DM, Shah M, Easton DF, et al. Common ERBB2 polymorphisms and risk of breast cancer in a white British population: A case-control study. *Breast Cancer Res.* 2005; 7(2): R204-9.
2. Babu GR, Samari G, Cohen SP, Mahapatra T, Wahbe RM, Mermash S, et al. Breast cancer screening among females in Iran and recommendations for improved practice: A review. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011; 12(7): 1647-55.
3. Society AC. Breast Cancer Facts & Figures: American Cancer Society; 2007.
4. Olivieri F, Spazzafumo L, Santini G, Lazzarini R, Albertini MC, Rippo MR, et al. Age-related differences in the expression of circulating microRNAs: miR-21 as a new circulating marker of inflammaging. *Mech Ageing Dev.* 2012; 133(11-12): 675-85.
5. Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004; 116(2): 281-97.
6. Huntzinger E, Izaurralde E. Gene silencing by microRNAs: Contributions of translational repression and mRNA decay. *Nat Rev Genet.* 2011; 12(2): 99-110.
7. Zampetaki A, Willeit P, Drozdov I, Kiechl S, Mayr M. Profiling of circulating microRNAs: from single biomarkers to re-wired networks. *Cardiovasc Res.* 2012; 93(4): 555-62.
8. Mattie MD, Benz CC, Bowers J, Sensinger K, Wong L, Scott GK, et al. Optimized high-throughput microRNA expression profiling provides novel biomarker assessment of clinical prostate and breast cancer biopsies. *Mol Cancer.* 2006; 5: 24.
9. Scott GK, Chang CH, Erny KM, Xu F, Fredericks WJ, Rauscher FJ, 3rd, et al. Ets regulation of the erbB2 promoter. *Oncogene.* 2000; 19(55): 6490-502.
10. Spazzafumo L, Olivieri F, Abbatecola AM, Castellani G, Monti D, Lisa R, et al. Remodelling of biological parameters during human ageing: Evidence for complex regulation in longevity and in type 2 diabetes. *Age.* 2013; 35(2): 419-29.
11. Meister J, Schmidt MH. miR-126 and miR-126: New players in cancer. *Scientific World Journal.* 2010; 10: 2090-100.
12. Zhang J, Du YY, Lin YF, Chen YT, Yang L, Wang HJ, et al. The cell growth suppressor, mir-126, targets IRS-1. *Biochemical and biophysical research communications Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 377(1): 136-40.
13. Khella HW, Scorilas A, Mozes R, Mirham L, Lianidou E, Krylov SN, et al. Low expression of miR-126 is a prognostic marker for metastatic clear cell renal cell carcinoma. *Am J Pathol.* 2015; 185(3): 693-703.
14. Ebrahimi F, Gopalan V, Smith RA, Lam AK. miR-126 in human cancers: clinical roles and current perspectives. *Exp Mol Pathol.* 2014; 96(1): 98-107.
15. Olivieri F, Spazzafumo L, Santini G, Lazzarini R, Albertini MC, Rippo MR, et al. Age-related differences in the expression of circulating microRNAs: miR-21 as a new circulating marker of inflammaging. *Mech Ageing Dev.* 2012; 133(12): 675-85.

16. Akbari A, Razzaghi Z, Homae F, Khayamzadeh M, Movahedi M, Akbari ME. Parity and breastfeeding are preventive measures against breast cancer in Iranian women. *Breast cancer*. 2011; 18(1): 51-5.
17. Nojomi M, Namiranian N, Myers RE, Razavi-Ratki SK, Alborzi F. Factors associated with breast cancer screening decision stage among women in Tehran, Iran. *Int J Prev Med*. 2014; 5(2): 196-202.
18. Stanslas J, Wong CC, Sagineedu SR, Sidik SM, Sumon SH, Phillips R, et al. SRJ09, a semisynthetic anticancer agent, targets Ras-MAPK signaling pathway: Assessment in breast and colon cancer cell lines. *Cancer Res*. 2014; 74(19): 4454-5.
19. Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: A population-based study from the California cancer Registry. *Cancer*. 2007; 109(9): 1721-8.
20. Azimzadeh M, Rahaie M, Nasirizadeh N, Ashtari K, Naderi-Manesh H. An electrochemical nanobiosensor for plasma miRNA-155, based on graphene oxide and gold nanorod, for early detection of breast cancer. *Biosens Bioelectron*. 2016; 77: 99-106.
21. Endo-Takahashi Y, Negishi Y, Nakamura A, Ukai S, Ooaku K, Oda Y, et al. Systemic delivery of miR-126 by miRNA-loaded Bubble liposomes for the treatment of hindlimb ischemia. *Sci Rep*. 2014; 4: 3883.
22. Wang F, Zheng Z, Guo J, Ding X. Correlation and quantitation of microRNA aberrant expression in tissues and sera from patients with breast tumor. *Gynecol Oncol*. 2010; 119(3): 586-93.

The comparison of the expression of miR-126 in breast and normal tissue and the association between these data and age of Iranian population

Rouigari M¹, Ghaedi K^{2*}, Mohammadynejad P¹

¹Biology Dept., Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Sharekord, I.R. Iran; ²Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran.

Received: 16/Oct/2016 Accepted: 24/Des/2016

Background and aims: Breast cancer is the most common cancer among women. miRNAs are a class of non-coding RNAs which play an important role in control of gene expression at post-transcriptional level. miR-126, an intronic miRNA derived from *EGFL7* gene. miR-126 has been revealed to down-regulate and play a tumor suppressive role in breast tumors. The aim of this study was to assess the expression of miR-126 in breast and normal tissue and an association between these data and age of Iranian population.

Methods: In this study, expression of miR-126 was assessed in cancer specimen and normal breast tissues by Real Time RT-PCR. Then, the association between expression of miR-126 and age were calculated. *U6* gene was selected as the control. Data were analyzed statstically by ANOVA and t- test.

Results: Data indicated that the expression of miR-126 was significantly down-regulated in tumor status. Also, the expression of miR-126 had a significantly difference between normal and malignant and benign tumor. ($P<0.05$). In addition, there was a relationship between age and the expression of miR-126, and the age of the patients who had a low expression of miR-126 was less than the age of the patients that had the high expression of miR-126.

Conclusion: The results shows that miR-126 expression decreases in tumor status. In addition, a significant correlation between expression of miR-126 and age of patients was observed.

Keywords: Breast cancer, Gene expression, miR-126, Real Time RT-PCR.

Cite this article as: Rouigari M, Ghaedi K, Mohammadynejad P. The comparison of the expression of miR-126 in breast and normal tissue and the association between these data and age of Iranian population. J Shahrekord Univ Med Sci. 2018; 19(6): 91-98.

***Corresponding author:**

Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran. Tel: 00989133294917,
E-mail: kamranghaedi@yahoo.com